

Ann. Biol. T 5, Fasc. 3-4: 105-171.

FEY, F. 1962. *Hämatologische Untersuchungen an Xenopus laevis* Daudin. Morph. Jahrbuch 103: 9-20.

JORDAN, H. E. and C. C. SPEIDEL. 1924. *Studies on lymphocytes. III. Granulocytopoïesis in the salamander with reference to the monophyletic theory of blood cell origin.* Ann. J. Anat. 33: 485-505.

— and H. W. BEAMS. 1930. *Hepatectomy in the salamander with special reference to hemopoiesis and cytology of the liver remnant.* Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 28: 181-184.

NIEUWKOOP, P. and J. FABER. 1956. *Normal table of Xenopus laevis (Daudin).* Amsterdam: North Holland Publ. Co.

N^o 27. **H. Huggel** et **M. Michea-Hamzehpour**. — Analyse des électrolytes, du glucose et des protéines totales d'homogénats d'embryons et d'alevins de *Salmo gairdneri* Rich. ¹

Laboratoire d'Anatomie et Physiologie comparées, Genève.

INTRODUCTION

Nous avons pu démontrer l'existence d'une régulation spécifique chez la truite, et ceci par l'analyse des rapports quantitatifs entre les ions principaux Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{++} , PO_4^{+++} et récemment le Mg^{++} .

Il faut admettre que l'osmorégulation de la truite dans l'eau douce est très développée. Malheureusement, cette analyse pendant le développement embryonnaire, est limitée par la nécessité d'obtenir des quantités de sang suffisantes à la micro-analyse. Il s'est révélé extrêmement difficile d'aspirer du sang d'embryons par des microcapillaires, sans faire des erreurs techniques considérables. Pour éviter cette difficulté, nous avons choisi la méthode de l'analyse complète des tissus, pour pouvoir étudier l'évolution de l'équilibre ionique pendant l'ontogénèse. Travaillant dans notre laboratoire avec le cœur de la truite, nous avons choisi le muscle cardiaque comme un tissu adulte, avec lequel nous comparons nos résultats obtenus avec les embryons.

¹ Travail exécuté grâce à un subside du Fonds national de la recherche scientifique (n^o 3065).

MÉTHODE ET TECHNIQUE

Les jeunes embryons sont préparés dans une solution physiologique (HUGGEL, 1952), le sac vitellin enlevé et l'embryon égoutté sur un papier filtre. Le papier avec l'embryon est immédiatement congelé dans la neige carbonique, l'embryon enlevé à l'état congelé et transporté dans l'homogénéisateur. L'homogénéisation se fait dans la glace en évitant tout réchauffement, en faisant tourner le piston à très basse fréquence (moteur à vitesse réglable). Les embryons éclos et les alevins ont été égouttés après une narcose au MS 222, sur papier filtre, et fortement congelés sur la neige carbonique; à cet état on peut très facilement énucléer le sac vitellin. L'homogénéisation des embryons éclos a causé quelques difficultés par le fait que la centrifugation produisait deux couches distinctes, une liquide, le vrai surnageant, et une visqueuse, comme une « gelée ». Dans ce cas, nous avons analysé les deux couches séparément.

ANALYSES

Les méthodes utilisées ont été citées dans une publication précédente (HUGGEL, 1963). L'analyse du Ca et du Mg des embryons du stade IV a été effectuée avec l'absorption atomique¹, méthode que nous n'avons pu introduire que récemment. Au cours du développement la quantité de sang augmente considérablement et la concentration en K, dans l'homogénat, se trouve ainsi très élevée, de sorte qu'il n'est plus permis de comparer la concentration en K des homogénats d'alevins avec les embryons.

En ce qui concerne le stade IV (jeune stade embryonné), une erreur technique peut être à la base de cette exception. En effet, la préparation des embryons se fait dans une solution physiologique (HUGGEL 1952), qui a peut-être influencé les concentrations ioniques, puisqu'il est très difficile de ne pas introduire un peu de Ringer dans les homogénats. En plus, les ions intracellulaires pouvaient très rapidement changer avec le « nouveau » milieu extracellulaire.

L'état d'hydratation du tissu frais ou homogénéisé par la conservation au deep freezer, ou par l'homogénéisation, était écarté.

RÉSULTATS

Le tableau indique les valeurs quantitatives des différentes analyses. Le *sodium* et le *potassium* sont à considérer ensemble, puisque leur rapport a une signification physiologique. L'embryon entier possède un rapport de 1,8 — 1,95

¹ Nous remercions le professeur E. Stein d'avoir mis son appareil à notre disposition.

à 1 (K: Na). Le tissu cardiaque adulte surprend par son rapport faible 1,53: 1. Le changement du rapport est dû à une augmentation de la concentration du Na intracellulaire pendant l'ontogénèse.

Le contenu en *chlore* est plus élevé chez les animaux entiers (embryons et alevins) que dans le tissu cardiaque. Cette différence est très importante: elle démontre l'existence d'un mécanisme spécifique, limitant la concentration du chlore intracellulaire des différents tissus. Le cœur contient environ 25% moins de chlore que l'ensemble du corps. Calculé par rapport au sérum (HUGGEL, 1963) (environ 120 mg/l), le muscle cardiaque contient seulement 50% du chlore que contient le sérum. La concentration en Ca est très variable, mais toujours plus élevée que le sérum-calcium. Malgré le début de l'ossification chez les alevins, les valeurs restent relativement basses. Dans ce cas, la composition de l'eau pour la pisciculture doit exercer une influence décisive. Les phosphates montrent des valeurs très élevées; vu la carence en phosphates de l'eau douce, on peut parler d'une véritable rétention du phosphate intracellulaire.

La concentration en glucose est autour de 0,1%, autant pour les homogénats que pour le sérum. Les valeurs exceptionnellement hautes de certains homogénats du muscle cardiaque, proviennent certainement d'un effet de formation de glucose *post mortem*, puisque les échantillons tout frais et non conservés au congélateur montrent des valeurs basses (62,3; 77; 137). L'analyse des protides par le Biuret n'est qu'une indication sommaire du contenu en protéines. Il est clair que le tissu cardiaque adulte est plus concentré que le tissu embryonnaire, en général, grâce à ses protéines contractiles.

La séparation en deux couches, par la centrifugation, est à attribuer aux protéines, le surnageant contenant un peu moins de protéines que la « gelée », mais d'une façon non spécifique.

Le calcium intracellulaire augmente pendant l'ontogénèse au moment où la réserve vitelline est fortement attaquée (entre le stade IV et V). Ceci est étroitement en relation avec la différenciation du tissu osseux. Les valeurs de la concentration du Ca intracellulaire sont variables mais restent autour d'une valeur moyenne de 12 mg %. Les deux premiers extraits cardiaques (1 et 2, voir tableau) représentent des valeurs aberrantes, autant pour le Ca que pour les ions Na et Cl que nous attribuons à une conservation prolongée dans le deep freezer.

PROSSER (1961) et BETHE (1952) donnent une multitude d'exemples de muscles de rats, grenouilles, etc. mais rien pour le poisson.

Le rapport du sérum-Ca et le Ca intracellulaire du cœur de la grenouille et du rat est de 1 à 2 ou 1 à 3. Pour le cœur de la truite ce rapport n'est que de 1: 1,3. La diminution du rapport chez les téléostéens correspond à un taux plus élevé du Ca intracellulaire. Quoique nous possédions seulement des valeurs valables pour le Mg intracellulaire, cette analyse mérite un grand intérêt puisque la valeur de 9 meq/l est très basse et le rapport entre le Ca et le Mg de ce stade IV est

environ 1 à 2, ce qui est de nouveau très bas. Nous avons analysé également le cœur de truites atteintes d'hydropisie infectieuse et avons pu démontrer l'influence profonde sur la composition ionique intracellulaire.

CONCLUSIONS

La composition ionique intracellulaire de l'embryon de truite et du muscle cardiaque est quantitativement différente de celle des autres vertébrés. Le rapport entre les concentrations intracellulaire et sérique est également différent de celui des autres vertébrés. Particulièrement la haute concentration en Ca intracellulaire

TABELLE

Pour les embryons, leur stade de développement est défini dans le travail de HUGGEL (1952) ; les stades IV et V correspondent à un embryon avec apparition du pigment oculaire (IV) et au moment de l'éclosion (V).

- 1 — 5: séries de cœurs analysés à des époques différentes
 1 + 2: séries conservées au congélateur pendant cinq mois
 3 — 5: séries utilisées immédiatement

TABEAU DES ANALYSES D'EMBRYONS, ALEVINS ET MUSCLES CARDIAQUES

	Nom- bre d'es- pèces	+ Na meq/l	+ K meq/l	— Cl meq/l	++ Ca mg/100	+++ PO ₄ mg/100	Glucose mg/100	Pro- tides g/100	% Eau cœur	% Eau homogénéat
Embryons stade V .	80	42	—	66	17,35	110	130	7,7	—	—
Embryons éclos (gelée)	60	46,5	84,6	65,6	12,2	101	115	10,9	—	—
Embryons éclos (sur- nageant)	60	48	92,6	64,1	10,56	89	86	8,1	—	—
Embryons éclos (gelée)	60	45	88,9	74,4	11,31	109,8	85,8	8,0	—	—
Embryons éclos (sur- nageant)	60	32	56,5	49,0	9,7	72,8	45,5	4,97	—	—
Embryons avancés . .	60	52	—	118	10,5	—	52,3	6,4	—	—
Alevins I	30	76	—	92	12,9	—	75	6,16	—	—
Alevins à jeûn 72 h. .	30	64	—	83,7	14,85	—	101	5,75	—	—
Muscle cardiaque (1) .	10	66	—	72	5,54	77,0	319	10,8	81,4	75,6-77,8
Muscle cardiaque (2) .	8	65	70,0	68,7	4,1	94,0	287	12,0	80,8	78,0-76,03
Muscle cardiaque (3) .	8	50	74,4	49,8	14,1	85,0	137	13,1	80,08	76,1-77,6
Muscle cardiaque ma- lade	5	33	70,4	34,0	16,3	71,6	518	12,1	79,5	80,02-81,6
Muscle cardiaque (4) .	5	51,5	80	58,4	12,85	65,6	77	13,8	79,8	80,02
Muscle cardiaque (5) .	4	50,0	106	55,0	8,6	82,6	62,3	12,5	79,0	—
Embryons stade IV .	300	75,4	36,0	80,1	5,63	—	70,5	6,7	Mg: meq/l 9,06	

fait changer ces rapports. Pendant l'ontogénèse, deux phénomènes caractérisent l'établissement de l'état définitif: premièrement, les cellules embryonnaires sont pauvres en ions, spécialement en Na et Cl, tandis que le K semble être établi à une valeur définitive dès le début. La faible concentration en protides est un indicateur, que la cellule embryonnaire se trouve dans un état plus dilué que la cellule musculaire cardiaque adulte. Deuxièmement, le processus d'augmentation de la concentration ionique pendant l'ontogénèse est lent et graduel pour le Na et le Cl, rapide pour le Ca et les phosphates.

BIBLIOGRAPHIE

- BETHE, A. 1952, in *Allgemeine Physiologie*. Springer.
- HUGGEL, H. 1952. *Temperaturabhängigkeit und Herzfrequenz des embryonalen Herzschlauches bei der Forelle (Salmo irideus)*. Revue suisse de Zoologie, tome 59, (n° 13).
- A. KLEINHAUS et M. HAMZEHPOUR. 1963. *Composition du sang de Salmo gairdneri irideus et Squalius cephalus*. Revue suisse de Zoologie, tome 70, fasc. 2 (n° 18).
- PROSSER, C. L. and F. A. BROWN. 1961. *Comparative Animal Physiology*. Saunders.

N° 28. Ch. H. Taban, P. Charollais, F. Bersier. — Contrôle immunologique de la régénération (IV) (Avec 7 figures dans le texte)

I. POURQUOI UN CONTRÔLE IMMUNOLOGIQUE DE LA RÉGÉNÉRATION EST-IL PENSABLE ?

Un des problèmes essentiels de la biologie contemporaine est certainement celui de la différenciation cellulaire.

Depuis les travaux de MONOD, JACOB et des nombreux chercheurs qui se sont adressés à un matériel génétique relativement simple comme celui des bactériophages de colibacilles, nous savons que la synthèse d'enzymes, de protéines, nécessite la présence d'*opérons*. Ceux-ci peuvent être réprimés ou inversement déréprimés. S'ils sont réprimés ils ne peuvent extérioriser leurs potentialités. La répression peut être consécutive à l'action de répresseurs différents.

L'idée de base de nos expériences est qu'un de ces types de répression peut être d'ordre immunologique, ou tout au moins être mis en évidence par des méthodes immunologiques.